



# Functional analysis of gibberellin up-regulated genes identified in rice using microarray system

著者	Jan Asad
内容記述	Thesis (Ph. D. in Biotechnology)--University of Tsukuba, (A), no. 4032, 2006.3.24 Includes bibliographical references
発行年	2006
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/18220">http://hdl.handle.net/2241/18220</a>

氏 名 (国籍)	ジャン アサド (パキスタン)		
学 位 の 種 類	博 士 (生物工学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4032 号		
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Functional Analysis of Gibberellin Up-Regulated Genes Identified in Rice using Microarray System</b> (マイクロアレイシステムによりイネに見出されたジベレリン誘導性遺伝子の機能解析)		
主 査	筑波大学教授	農学博士	松 本 宏
副 査	筑波大学教授	農学博士	鈴 木 隆 久
副 査	筑波大学教授	農学博士	西 村 繁 夫
副 査	筑波大学講師	農学博士	春 原 由香里
副 査	農業生物資源研究所チーム長	薬学博士	小 松 節 子

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

地球上の人口は急激に増加しており、2020 年までに穀物収量を 40%増加する必要があると言われている。収量増を可能とする最も効果的な戦略のひとつは「緑の革命」の成功でも明らかなように、主要作物の矮化等の草型制御である。イネに関しては、ゲノム研究進展が著しく、ゲノム情報を利用した機能解明研究にマイクロアレイのツールが充実してきた。一方、イネの草型制御においては、植物ホルモンのジベレリンの生合成系や情報伝達系の調節の関与が重要であることが報告されている。本研究では、マイクロアレイシステムを利用しジベレリンにより制御を受ける遺伝子群を検出し、機能解明の後それら遺伝子の利用を試みた。

まず、既存の cDNA マイクロアレイではジベレリン処理で初めて誘導される遺伝子群は検出されないことより、ジベレリン処理イネから抽出した RNA を用いて 4,000cDNA を貼り付けたオリジナルアレイを作成した。このアレイを利用してジベレリン誘導性遺伝子群をスクリーニングした結果、ジベレリンにより発現が誘導される 40 クローンと抑制される 56 クローンを検出した。さらにジベレリン誘導性と組織特異性に対してノーザンブロットにより絞り込んだ。幼苗期イネの葉鞘特異的にジベレリンで顕著に誘導される遺伝子である xyloglucan endotransglucosylase gene 8 (XTH8), pyruvate dehydrogenase kinase gene 1 (PDK1), novel gibberellin enhanced gene 1 (GAE1) を見出し、これらについて機能解析を行った。

XTH8 は細胞膜に存在し細胞の伸長に関与しているが、ジベレリン応答性および組織特異性については不明であった。ノーザンブロットと in situ ハイブリダイゼーション解析では、イネの葉鞘特に茎頂で顕著に発現していた。XTH8 プロモーター領域導入形質転換イネでも、同様に茎頂部位に発現し、ジベレリン誘導性が顕著であった。XTH8 遺伝子の発現抑制形質転換イネは、対照と比較して 70%の成長率であった。形質転換イネの形態観察とノーザンブロット解析から、XTH8 はイネの伸長に関与している第 2 節程と第 3 節程に影響を及ぼすことが明らかになった。

PDK1 はミトコンドリアに存在し解糖系に関与しているが、ジベレリンと関連した役割はこれまで不明で

あった。RT-PCR, ノーザンブロットおよびプロモーター解析では, イネの葉身と葉鞘に存在し, 葉鞘においてジベレリン誘導性が顕著であった。PDK1 遺伝子の発現抑制形質転換イネは, 対照と比較して 70% の成長率であった。さらに, 酵素活性測定およびノーザンブロット解析により, ジベレリンは, PDK1 の介するピルビン酸から TCA 回路への直接的な経路を抑制し, 間接的に TCA 回路からエネルギー産生の後, 茎葉伸長を誘導することが明らかになった。

GAE1 はゲノム上には存在するが, 未だ報告のない機能未知の遺伝子であった。ノーザンブロット, in situ およびプロモーター解析では, イネのカルスと葉鞘に存在し, 葉鞘においてジベレリン誘導性が顕著であった。GAE1 遺伝子の発現抑制形質転換イネは, 対照と比較して 50% の成長率であった。ジベレリンの情報伝達系および生合成系の突然変異イネとの比較から, GAE1 は両者とも関与していなかった。機能未知であることから, タンパク質を合成し抗体を調整した結果, GAE1 タンパク質はイネにおいて 40kDa として機能していることが明らかになった。

以上のことより, ジベレリン誘導性オリジナルマイクロアレイの作成により新規な遺伝子群を検出することができた。その機能解析結果より, ジベレリン応答時に, ミトコンドリアによるエネルギー産生系や細胞膜の伸長システムが重要な役割を担っていることが明らかになった。さらに, 形質転換イネの作出により, これら遺伝子群は草型制御に大きく関与していることが示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は, 我が国における最も重要な作物でありゲノム研究進展が著しいイネを材料とし, 植物ホルモンのジベレリンにより制御を受ける遺伝子群を検出し, さらにそれらの機能解析を行ったものである。ジベレリン誘導性オリジナルマイクロアレイを用いてジベレリン誘導性遺伝子群をスクリーニングした結果, 発現が誘導される 40 クローンと抑制される 56 クローンを検出している。また, これらの中から幼苗期の葉鞘特異的にジベレリンによる誘導が顕著であるものとして XTH8, PDK1, GAE1 の 3 遺伝子を見い出した。さらに, これらの遺伝子の機能を詳細に解析した結果, ジベレリン応答時において, 伸長の制御やエネルギー産生において重要な役割を担っていることを明らかにした。

本研究ではイネの草型制御に関わるいくつかの遺伝子を見い出している。また, それらの機能についての新知見を提供しており, 作出した形質転換体も的確に評価している。これらのことから, 本研究の成果は, 草型制御遺伝子を利用した高収量の新品種育成にもつながる重要なものであると判断される。論文中の一連の研究において実験は適切に行なわれ, 結果も適切に考察, 記載されている。

よって, 著者は博士(生物工学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。